



TITLE:

バクテリアのコロニー形成:実験とモデル化(第47回生物物理若手の会夏の学校)

AUTHOR(S):

松下, 貢

CITATION:

松下, 貢. バクテリアのコロニー形成:実験とモデル化(第47回生物物理若手の会夏の学校). 物性研究 2008, 89(5): 605-619

ISSUE DATE:

2008-02-20

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/111009>

RIGHT:

バクテリアのコロニー形成－実験とモデル化－

Colony formation in bacteria – experiments and modeling –

オーガナイザー：畑 和也

講師：松下 貢（中大・理工・物理）

松下貢先生は、生物現象を統計物理や非線形物理としての研究対象として、精力的に研究されています。

今回、松下貢先生にお話しいただけるのは、見た目にも非常にきれいな（本当に！）バクテリアの“コロニー”の形についてのお話しです。実際に実験でどうなるかはもちろん、それを理論的にどう解明するかのお話しもしていただける予定です。生物を物理的対象として見たとき、まだまだ基礎的な解決すべき問題が多々あることは皆様周知の通りかと思いますが、このバクテリアのコロニーに関する話も、反応拡散方程式という非線形微分方程式をいかにして扱うかという理論的にも非常におもしろい内容になるはずです。

ちなみに、ここではバクテリアのコロニー、つまり「2次元」を中心としたお話を松下先生にさせていただけるかと思いますが、別に予定されている太田隆夫先生の講義では、この話のいわば「3次元」版についての内容をお話しいただける予定ですので、よろしければそちらも是非ご参加ください。

バクテリアのコロニー形成—実験とモデル化—

Colony formation in bacteria — experiments and modeling —

中大・理工・物理

松下 貢

1. はじめに

生物を集団、個体群、あるいはポピュレーションという視点で議論する場合、それを構成する個体の特性の中で最も重要なのは、増殖と運動だと思われる。集団としての生物は例外なく、適当な環境の中で増殖し、動き回る。すると、一つの面白い問題がごく自然に持ち上がるであろう：例えばいろいろの生物が作る集落や人間による都市形成なども含めて、生物集団が作り出すパターンには個々の生物種によらない、何か普遍的な面があるのではないか。¹⁾ここではバクテリアのコロニーに焦点を当てて、この問題を議論する。

ここでまず問題になるのは、なぜバクテリアか、であろう。パターン形成の研究にとってバクテリアを使うのに少なくとも二つの利点がある。第一に、彼らの環境条件を容易に変えられる点が上げられる。例えば、培地の中の栄養濃度を変えることによって、実効的に増殖率を制御できる。また、寒天培地の寒天の濃度を上げると培地は固くなり、下げると柔らかくなるが、固めの培地ではバクテリアは動き難く、柔らかめの培地ではよく動く。このように、個体の特性である増殖能と運動能が、培地の中の栄養濃度と寒天濃度を変えることにより、容易に制御可能なのである。

バクテリアを使う第二の利点は、その細胞のサイズが観察にちょうど都合がよいということである。大腸菌 (*Escherichia (E.) coli*) や枯草菌 (*Bacillus (B.) subtilis*) のような普通に使われるバクテリアは直径 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$ 、長さ $2 \sim 4 \mu\text{m}$ 程度の桿菌であり、普通の生物顕微鏡で容易に観察できる。したがって、結晶成長のような場合と違って、バクテリアのコロニー成長ではマクロなコロニーの成長の様子だけでなく、個々の細胞のミクロな構造と運動まで観察可能なのである。一般的にパターン形成を理解するに当たって、ミクロとマクロの間を橋渡しできることは非常に重要であろう。このように、バクテリアは生物集団によるパターン形成の研究における最適なモデル系であるといえることができる。

次に問題になるのは方法論であろう。大腸菌や枯草菌などのバクテリアは典型的な単細胞生物と言われる。すると彼らは個々別々に成長し生活していると思いがちであり、水中では確かにそのようにも見える。しかし、自然界でのバクテリアの普通のすみかである土壌など、ものの界面では彼らは多くの場合ばらばらにではなく、コロニーを形成して生活している。そしてコロニーは種に

よってサイズ、形や色が異なる²⁾し、栄養の豊富さや温度など環境条件によっても敏感に変わる。こういった事実はバクテリアが互いに独立に生活していると仮定してはとうてい理解できず、彼らの多細胞的な振舞いを示唆しているように思われる。³⁾ このような複雑系を研究するための取っ掛かりの方法の一つは、少数のキーとなるパラメータを選んでそれを変えることにより、パターンのモルフォロジー・ダイアグラムを作り上げることであろう。ここでは上述の議論から明らかなように、そのパラメータとして、培地に含まれる栄養濃度と培地の固さの二つを選べばよい。

以上のような観点に立ってバクテリア・コロニーの形成実験を長年行ってきた。その一端を紹介し、その結果を再現するようなモデル化の試みを議論しようというのが、ここでの目標である。

2. 実験方法

試料バクテリアとしてここでは土壌などに広く分布しているバシラス属の枯草菌 (*B. subtilis*) を取り上げる。我々の食生活にすっかり浸透している納豆を作る納豆菌 (*B. natto*) はこの枯草菌の分家筋に当る。以後、断らないかぎり菌株は OG-01 株 (食物から分離した野生株) に固定する。バクテリアは比較的頻繁に突然変異を起こし、コロニー・パターンは一般に変異株によって異なるからである。ただし、もとの野生株から誘導した、特定の性質を有する変異株はコロニー形成の解明に非常に有用であり、その例は折に触れて示す。

培地としては、直径 9 cm ほどの滅菌シャーレ内に、指定量の寒天を含めて固めた薄い寒天ゲル平板を用いる。寒天の多少は環境条件としての培地の固さ柔らかさを規定する。また、この寒天板にはバクテリアの活動・増殖のための栄養源として、指定量のペプトンをあらかじめ仕込んでおく。この寒天平板の表面に菌を点状に接種し、恒温恒湿培養器で所定の時間培養する。以上のプロセスには何ら特別なことはなく、どこでも行われている全くルーティン的な作業である。

パターンの観察は多くの場合、透明プラスチック製培養器内で成長中のコロニーを外から TV カメラを介してタイムラプス・ビデオシステムで長時間録画する。また、個々のバクテリア細胞の動きは顕微鏡で観察し、TV カメラを使ってビデオ録画する。これらの画像は必要に応じて画像解析する。

3. 実験結果

我々の培養条件では枯草菌は寒天ゲルの中に入り込まず、コロニーは寒天平板上でほぼ 2 次元的に成長する。さらに、観察するコロニーの大きさ (だいたい差し渡し 5 cm 程度) に比して寒天平板が薄い (3 mm 程度) ので、我々のバクテリアコロニーの成長は準 2 次元的なパターン形成とみなしてよいで

あろう。

我々は環境条件がバクテリアのコロニー形成にどのように影響するかを調べた。環境条件を変えるパラメータとしては前述のように、寒天培地の寒天濃度 C_a と栄養（ペプトン）濃度 C_n をとり、培養温度 35°C 、湿度 95%と固定した。その結果得られたコロニーパターンのモルフォロジー・ダイアグラムを図 1 に示す⁴⁾。縦軸には栄養濃度 C_n の対数が、横軸には寒天濃度 C_a の逆数が目盛っている。即ち、上に行くほど栄養が豊富になり、右に行くほど培地が柔らかくなる。この図から環境条件の違いがいかに強くコロニーパターンに影響するかがわかるであろう。それぞれの領域のパターンの特徴に関する再現性はある、決して突然変異などのせいではないことを強調しておく。以下では図 1 の各領域のパターンと領域間のパターン変化の特徴を逐次的に議論しよう。

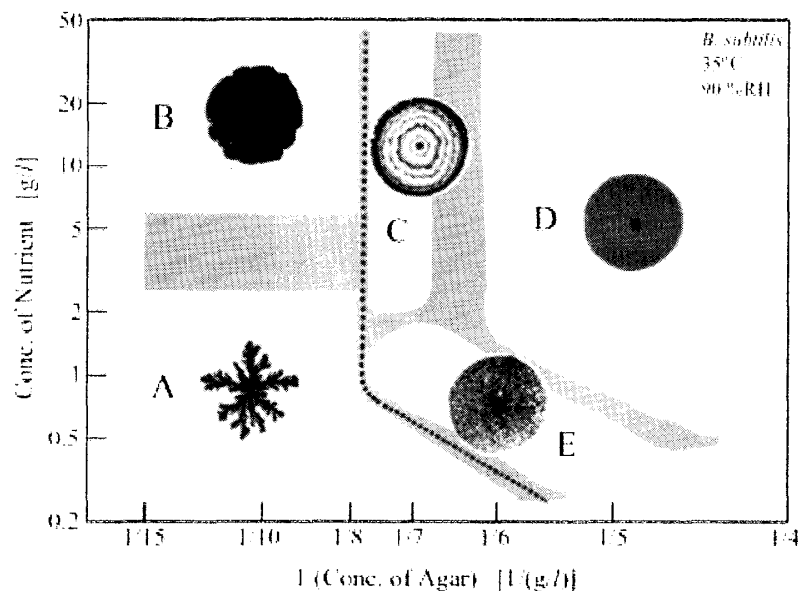
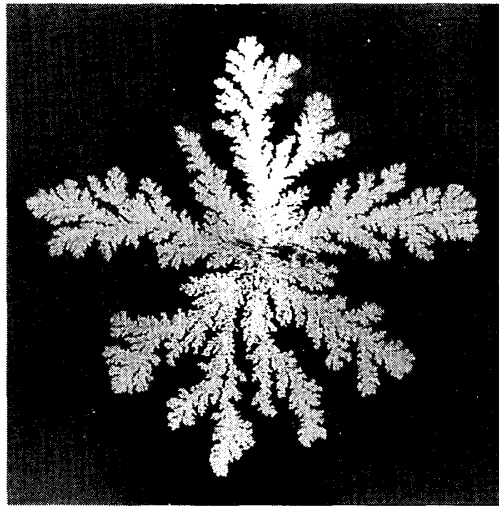


図 1

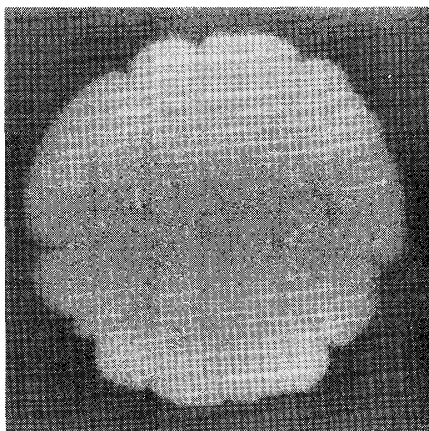
領域 A では培地は固く、栄養濃度が低い。即ち、バクテリアにとって環境条件はとても悪い。この条件下ではコロニーは高度に枝分かれしながらゆっくりと成長する。その一例を図 2 に示す。コロニーパターンは自己相似的で、そのフラクタル次元は約 1.72 である。これはいわゆる DLA（拡散に支配された凝集）モデルのそれに近い。実際、成長しつつある枝には遮蔽効果が顕著に見られるし、2 個同時に接種して培養したコロニーの間には特徴的な反発現象が見られる。これらはいずれも DLA に固有の現象である。現在ではこの A 領域でのコロニー成長は栄養の拡散が律速する DLA 成長であることがはっきりしている。また、同様の条件下では枯草菌だけでなく、大腸菌、サルモネラ菌などでも DLA 成長を示す。



DLA-like pattern (*Bacillus subtilis*)

図 2

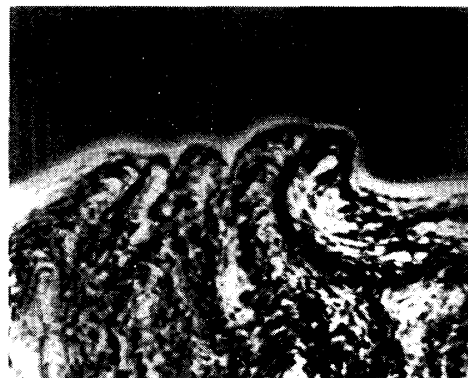
寒天濃度 C_a はほぼ固定し栄養濃度 C_n を増して領域 A から B に移行すると、コロニーの枝は次第に太くなり、領域 B では枝のないコンパクトなコロニーパターンが得られる。その一例を図 3 (a) に示す。この領域でのパターンの成長界面は特徴的に荒れており、Eden モデルによって得られるパターンを思い出させる。しかし、成長界面を微視的に見ると違いがはっきりする (図 3 (b) を参照)。実際、その成長界面を顕微鏡によって観察すると、栄養が豊富なために成長が比較的早いけれども寒天培地が固くてバクテリアは能動的には動けない。そのため細胞分裂した個々の細胞がすぐには互いに離れることができず、あたかも一連のソーセージのように長くなっている。それが柔らかいスパゲッティの束のようになってコロニーの界面を構成している。しかも豊富な栄養に



Eden-like pattern (*Bacillus subtilis*)

図 3 (a)

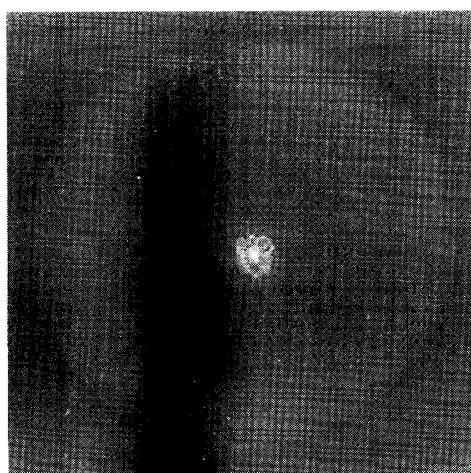
図 3 (b)



よってこれら“スパゲッティ”がどんどん長くなるために、界面はその束をうねらせながら押し出すようにして前進する。確かにこの場合も Eden モデルが期待するようにその界面は自己アフィン・フラクタルなのだが、その自己アフィン（荒さ）指数 α は約 0.78 であり、Eden モデルが与える 0.5 とは大きく食い違う。これは上述のように領域 B では界面に沿った界面揺らぎの相関が強いためである。Eden モデルではこの相関がない。

寒天濃度 C_a を下げて培地を柔らかくすると、図 1 の領域 C、D、E に見られるように、コロニー・パターンの様子ががらりと変わる。顕微鏡で成長界面を見ると、これらの領域では個々のバクテリア細胞が能動的に動き回っているのが観察される。領域 A、B では目立った能動的運動は見られず、図 1 の太い破線はその有無を表す。従って、領域 C、D、E でのコロニーの成長は A、B でのそれよりずっと速い。

培地が柔らかく栄養の豊富な広い領域 D ではコロニーは単純に等方的に拡がる。その一例を図 4 に示す。巨視的にはコロニーはほぼ完璧なディスク状だが、微視的にはバクテリア細胞 1 層からなり、界面近傍で個々の細胞による新しい領土への浸入が見られ、成長界面ははっきりしない。また、コロニー内の広い領域で個々の細胞が活発でランダムな動きを示す。この D 領域に限定すると界面の成長速度、内部でのバクテリア細胞の実効的拡散係数、その密度などの栄養濃度依存性の測定が可能であり、その結果から、コロニー成長はいわゆるフィッシャー方程式で記述できることが分かっている。

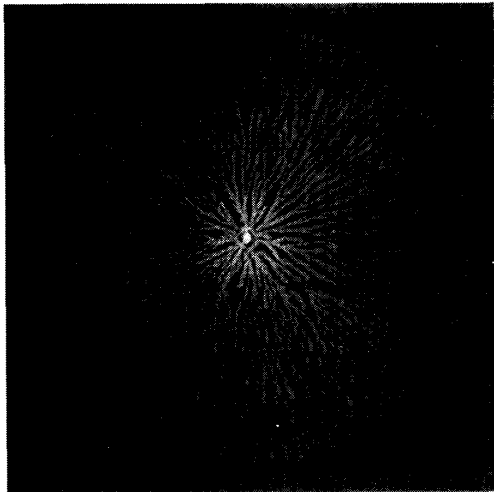


Fisher-like pattern (*Bacillus subtilis*)

図 4

領域 A と D との間の狭い領域 E ではちょうど両者でのパターンの特徴を兼ね備えたような、高度に枝分かれしてはいるが、外形はきわめてディスク状に近い、いわゆる DBM (dense-branching morphology) 的なコロニー・パタ

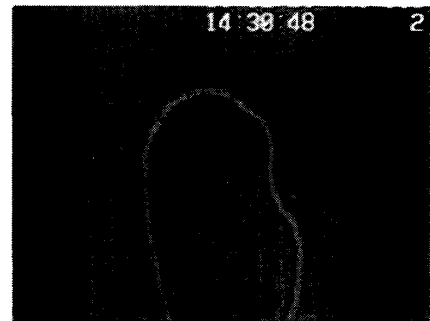
ーンが得られる。その一例を図5(a)に示す。DBMパターンもバクテリア・コロニーだけでなく、DLA同様、結晶成長や電析など他のパターン形成にも見られる。興味深いのは、パターンの外形を作っている成長しつつある枝の先端部を微視的に見ると、ちょうど指の爪のように活発に能動的運動をしている細胞の集まりがはっきりと見えることである。その一例を図5(b)に示す。枝の最外側は新しい領土に面して動きを活発でない2、3層の細胞でできており、D領域の場合と違って界面ははっきりしている。そして指の爪状の活発な細胞の一群が方向性のない能動的な運動によって外側の細胞層を押して枝を前進させている。しかも背後に不活発になってしまった細胞をどんどん残して進行する様子が顕微鏡ではっきり観察される。これはコロニー形成の際に活発な細胞とそうでないのが存在することをしている。



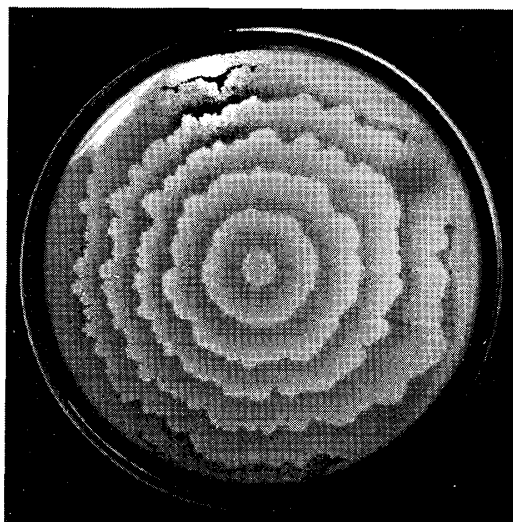
DBM-like pattern (*Bacillus subtilis*)

図5(a)

図5(b)



比較的狭い領域Cでは活発な細胞の能動的な動きとその停止とを交互に繰り返す、結果として同心円状のコロニーパターンを形成する。その一例を図6に示す。微視的な観察によると、能動的な動きをする際（遊走期という）にはバクテリア細胞が単一層で2、3時間掛けて広がり、最も外側のテラスを作る。そして単一層の中で動き回っていたバクテリアは突然その動きを止めて3、4時間続く停止期に入る。ただし、この停止期の間にも細胞分裂は活発に行われており、バクテリア細胞が幾層も重なってできたばかりのテラスの高さを増す。そのテラスがある高さを超えると、その下から一層をなすバクテリアが現れて次の遊走期に入り、新しいテラスを外側に作り始める。これを繰り返して次から次へと新しいテラスを形成し、結果として同心円状のパターンを作る。



concentric ring pattern (*Bacillus subtilis*)

領域Cでのこれまでの実験結果から、この領域で観察される周期的なコロニー成長について、現時点で次のような仮説を持っている：

- (1) 停止期が終了して遊走期がスタートするには、最も外側のテラスの細胞密度がある閾値を超えなければならない。
- (2) 遊走期が終了して停止期に入るには、拡張中のテラスでの細胞密度が別の低い閾値以下の値に減少する必要がある。

これは周期的なコロニー成長の“2閾値”仮説と呼べるようなもので、今後の実験的な裏付けが必要である。ただ、微生物学の世界では最近、バクテリアのある種の集団的行動のきっかけに“quorum (定足数) sensing”機構があることが議論されるようになり、これにはまさしくバクテリアの細胞密度に関する閾値が関連しており、我々の実験との関連がありそうである。

同心円状のコロニーを形成するものとしてはプロテウス菌 (*Proteus*)、特に *Proteus mirabilis* が有名だが、枯草菌のパターンはの場合ほどきれいな同心円状にはならない。その理由はよくわからない。ごく最近、我々は霊菌 (*Serratia marcescens*) や大腸菌 (*E. coli*) も適当な条件下できれいな同心円状パターンを形成することを見出しており、周期的コロニー形成はバクテリアの世界では普通のことではないかと思い始めている。

4. 実験結果のまとめ

これまでの実験結果をまとめてみよう。図1を見ると、モルフォロジーの変化は領域AからEのほうが、AからBのゆっくりした変化より顕著である。領域Eでのコロニーの成長率もAよりはるかに高い。実際、コロニーが培地の直

径の半分である 5 cm 程度に成長するのに、領域 A では 1 月掛かるのに対して、領域 B では 4, 5 日、領域 C と E では約 1 日、領域 D では半日ぐらいで済む。事実、図 1 の領域 A、B と C、E の間のほぼ垂直な破線はバクテリア細胞の能動的な運動が見られるかどうかの境目を示している。以上のことは、能動的な運動がコロニー形成にいかに重要な働きをなすかを如実に示していると言える。

領域 A でのコロニー形成は栄養濃度をラプラス場とする DLA モデルで記述できることは実験的に明らかにされた。これは栄養の拡散がコロニー形成に重要であることを示す。領域 D でのコロニー形成がフィッシャー方程式の解の振る舞いと矛盾しないことも実験的に確かめられた。このことはバクテリア細胞の成長・増殖と能動的な運動が重要であることを示している。べん毛に欠陥があつて能動的な運動ができない変異株について同じ実験をしたところ、領域 A、B だけになり、領域 C、D、E が見られなかった。このこともいろいろなモルフォロジーの出現に能動的な運動が重要であることを示すものである。これら諸々の実験結果は、少なくとも第一近似では、コロニー形成のモデル化にバクテリアの細胞密度と栄養濃度に関する反応拡散方程式によるアプローチが有力であることを強く支持するものである。

5. コロニー形成のモデル化

このように、コロニー形成の際の環境条件として栄養濃度と寒天濃度を変えるだけでも、コロニー・パターンは大幅にかつ定性的に変化する。このことは大腸菌や霊菌など、他のバクテリアでも同様に見られる。この問題の理論的な課題としては、特徴的なパターンを統一的に再現するような現象論的モデルを構築できるかということであろう。この点については、最近、反応拡散方程式を出発点とする多くのモデルが提案されており⁵⁾、そのいくつかを紹介する。

まず、栄養濃度 $N(x, t)$ が高くて栄養がたっぷりある場合には、その拡散を気にする必要がない。このときの様子を模式的に表したのが図 7 である。このとき、バクテリアの細胞密度を $B(x, t)$ とおくと、これは次の簡単な反応拡散方程式；

$$\frac{\partial B}{\partial t} = \nabla(D_b \nabla B) + \nu g(B, N)B \quad (1)$$

を満たす。ここで、右辺第 1 項にある D_b はバクテリア細胞の能動的な運動がブラウン運動とみなされると仮定したときの実効的な拡散係数であり、第 2 項目は細胞の増殖を表し、 ν は定数係数で関数 $g(B, N)$ が増殖率の細胞密度と栄養濃度の依存性を表す。ここでさらに D_b を定数と仮定し、バクテリア増殖にも環境が許容する限度があるとして $g(B, N) = 1 - B/K$ とおくと、(1) はよ

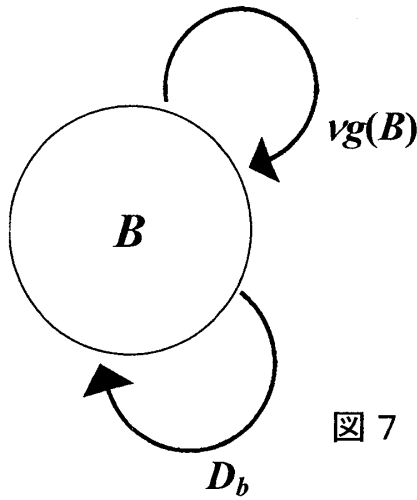


図 7

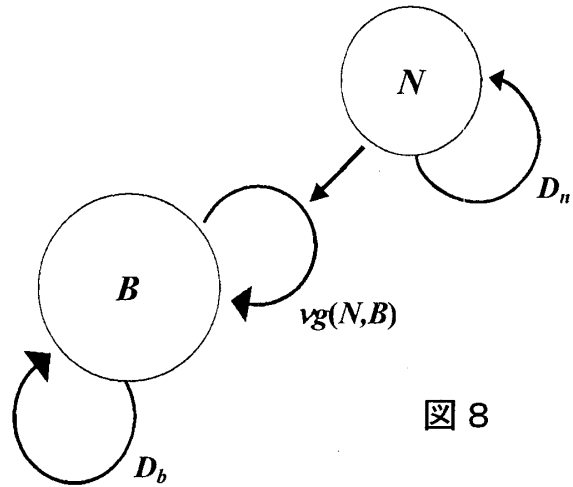


図 8

く知られたフィッシャー方程式⁶⁾

$$\frac{\partial B}{\partial t} = D_b \nabla^2 B + \nu B \left(1 - \frac{B}{K} \right) \quad (2)$$

となる。ここで K は環境許容度で、一般に栄養濃度に依存する。図 1 の領域 D でのコロニー成長の様子はこのフィッシャー方程式の解の振る舞いと矛盾しないことが実験的に確かめられている (文献 4) 参照)。

栄養濃度が低くなると、バクテリアが消費してその近くでの栄養の欠乏が生じ、遠くからの時間遅れの栄養の拡散が無視できなくなる。この状況を模式的に表したのが図 8 である。この場合に相当するモデルがこれまでにいくつか提案されている (文献 5) 参照)。特に、川崎らのモデルではバクテリアの拡散を非線形として、 $D_b = DNB$ とおき、さらに培地の荒れ具合を考慮するために $D = d \{ 1 + \omega(r) \}$ (d は定数、関数 $\omega(r)$ は $|\omega| < 1$ を満たすランダム関数) とする。さらに簡単のために、 $\nu = 1$ 、 $g(B, N) = N$ とおいた。結果として得られる反応拡散方程式は

$$\frac{\partial B}{\partial t} = d \nabla \cdot \{ (1 + \omega) N B \nabla B \} + N B \quad (3)$$

$$\frac{\partial N}{\partial t} = \nabla^2 N - N B \quad (4)$$

と表される。このモデルの数値シミュレーションの結果の一例を図 9 に示す。数値解析の結果、このモデルは定数 d と栄養の初期濃度 n_0 をパラメータとして変えることにより、図 1 の領域 A、E、D のパターンを再現することがわかった。しかし、領域 C で見られる周期的なパターンは再現できなかった。これは、バクテリア細胞の運動を実効的に拡散とみなし、それを単純な非線形形にしても、コロニーの周期的な形成は記述できないことを暗示する。

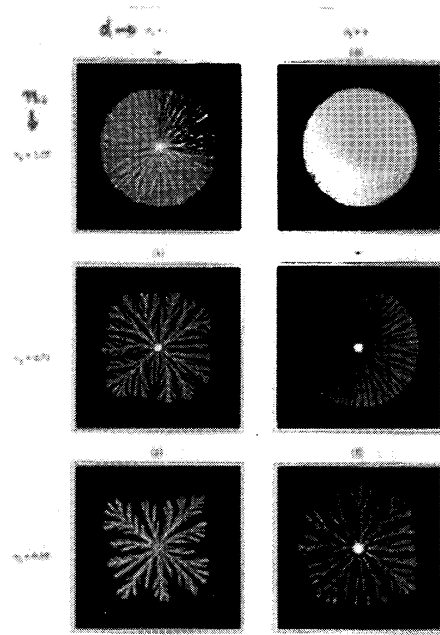


図 9

これらのモデル化の試みに対して、三村ら⁵⁾は領域Eにおいて成長する枝の先端部で見られる“指の爪”構造（図5(b) 参照）を深刻に受け止め、バクテリア細胞 $B(r,t)$ には能動的で活発なもの $B_a(r,t)$ とそうでない不活発なもの $B_i(r,t)$ とからなると考えた。したがって、二つの和である $B = B_a + B_i$ が実際に観察されるコロニーの細胞密度を与えることになる。このときの様子を模式的に示したのが図10であり、定式化すると次のように表される：

$$\frac{\partial B_a}{\partial t} = d\nabla^2 B_a + \varepsilon N B_a - a(B_a, N) B_a \quad (5)$$

$$\frac{\partial N}{\partial t} = \nabla^2 N - N B_a \quad (6)$$

$$\frac{\partial B_i}{\partial t} = a(B_a, N) B_a \quad (7)$$

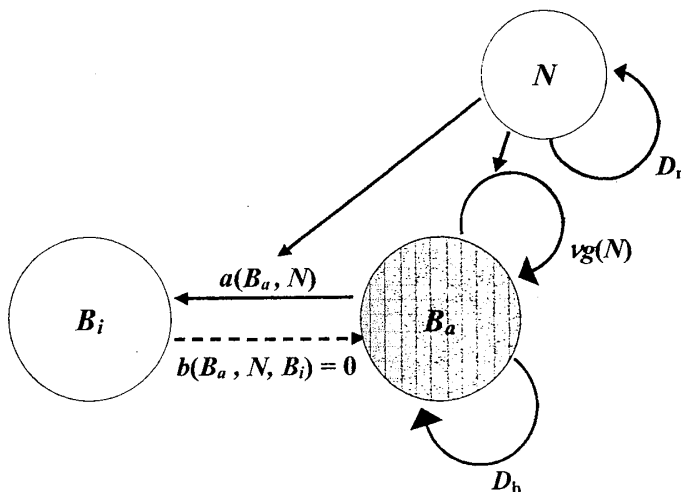


図 10

この方程式系ではすでに全体が無次元化されている。そのために、式(5)の d はバクテリアの実効的拡散係数と栄養分子の拡散係数の比であり、我々の実験における培地の柔らかさ(図1の横軸)に正確に対応する。

ここで、式(5)の右辺第3項は活発な細胞から不活発なそれへの変換を表し、係数 $a(B_a, N)$ はその変換率を表す。これは一般には細胞の内部状態によって決まるのであろうが、栄養がたっぷりあればわざわざ不活発になることもないであろうから、 $a(B_a, N)$ は N の減少関数と仮定してよいであろう。さらに、我々の観察によると、バクテリアは細胞同士が寄り添う性質があり、単独またはごく少数では動きが鈍くなる傾向がある。そこで、 $a(B_a, N)$ は B_a の減少関数でもあると仮定しよう。以上の要請にあう簡単な $a(B_a, N)$ の関数形は $a(B_a, N) = a_0 / \{(1+N)(1+B_a)\}$ であろう。その後の数値解析でこの関数形はそれほど重要でないことがわかっている。

このモデルによる数値シミュレーションの代表的な結果を図11に示す。

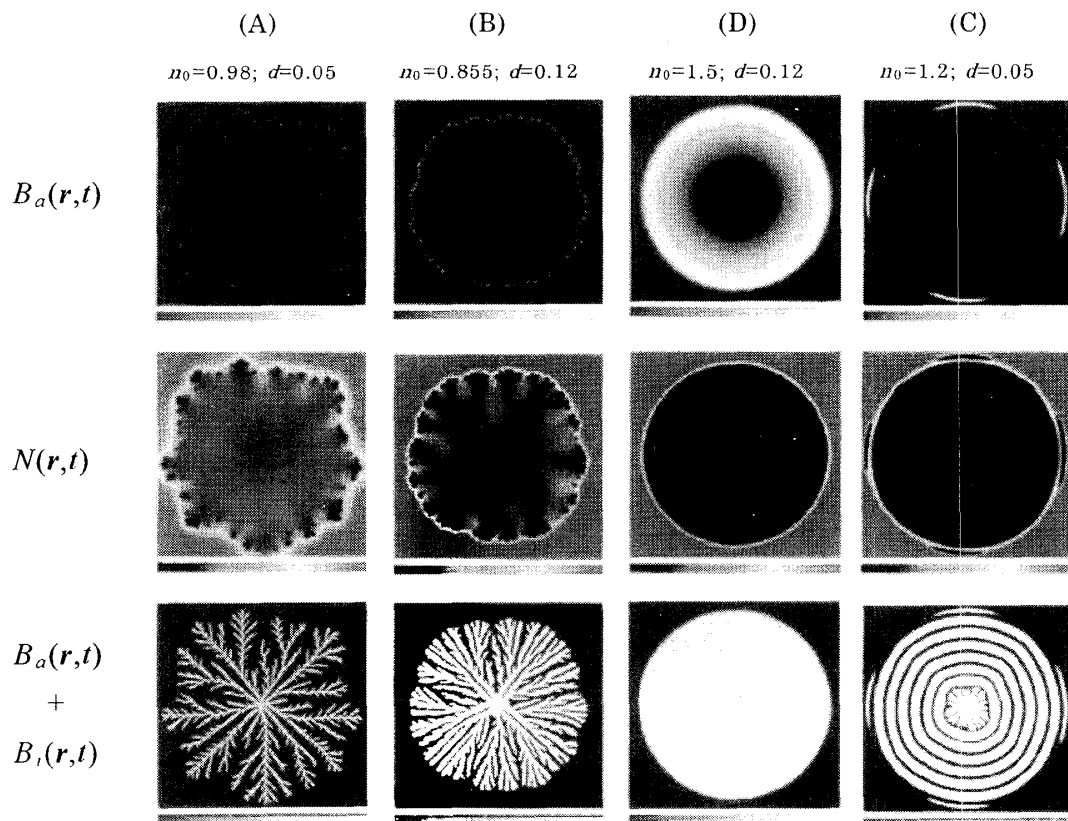


図 1 1

上図からわかるように、このモデルは同心円状のパターンを見事に作り出す。このモデルについてなされた詳しい数値計算の結果得られたモルフォロジー・ダイアグラムが図12である。この図で n_0 と d は図1の C_n と C_a^{-1} に対

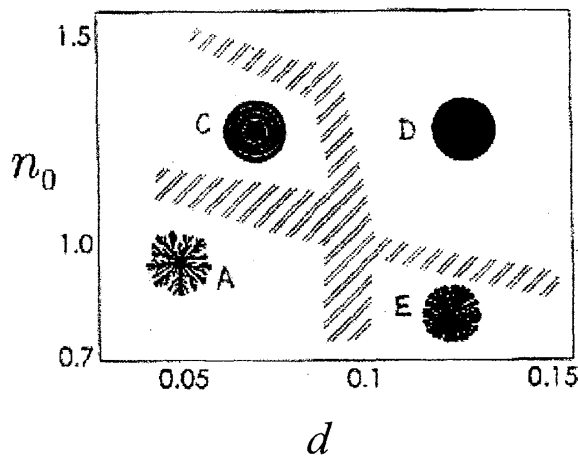


図 1 2

応する。ここで注目すべきことは、このモデルが図 1 に示された領域 C で見られるコロニーの周期的成長を再現することである。他のモデルに比べて、実験結果(図 1)の再現性は悪くない。

6. おわりに

実験結果では、代表例として枯草菌 (*Bacillus subtilis*) を取り上げた。これまで、プロテウス菌 (*Proteus mirabilis*)、霊菌 (*Serratia marcescens*) についても同様な実験を行った。最近、大腸菌 (*Escherichia coli*)、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) についても実験を行っている。この段階で言えることは、領域 A では栄養分子の拡散がパターンの成長を決めているので、そこでのパターンはバクテリアの種によらず普遍的であろう。また、領域 D の振る舞いも単純なので、種によらないであろう。領域 E での DBM 的なパターンは結晶成長など他のパターン形成に見られるので、やはり普遍的かもしれない。領域 B に見られるパターンは単純なので、これもバクテリアを超えて普遍的かと思われたが、成長界面は非常に生物的であり、生物系固有かもしれない。しかも、コロニー界面の成長の仕方は細胞の形や分裂の仕方によるであろうから、バクテリアの種に依存することが考えられる。驚きだったのは、領域 C で見られる同心円状コロニーが 1 世紀以上前から知られているプロテウス菌だけでなく、枯草菌、霊菌、さらに大腸菌にまで見られたことである。これが微生物の世界でどれほど一般的なのか、興味深い。また、領域 C に関して、“2 閾値”仮説の実験的な裏付けがほしい。

図 1.2 をよく見ると、図 1 の B 領域がないことに気付く。この領域 B では界面成長(図 3(b) 参照)がかなり特殊であることは 3 節で強調した。これをモデル化する最も単純な方法は細胞の動きを非線形拡散で表すことである。実際、 $D_b = d_1 B_a$ とおいて式 (5) の右辺第 1 項を変更すると、確かにイーデン的な

界面の荒れたコンパクトなパターンが得られる。しかし、パラメータ n_0 と d_1 の値を変えても領域 A、B、D で得られるようなパターンが再現できるだけである。⁷⁾ただし、非線形拡散係数として $D_b = d_0 + d_1 B_a$ とおき、正定数 d_1 を適当な値にとって固定し、パラメータ n_0 と d_0 の値を変えると、実験で観察された 5 種類のパターンが再現できることがわかった。⁷⁾しかし、領域 B と C の位置が実験とまったく逆であり、これは深刻な問題である。

もう一つ気になる点は、領域 C は実験では図 1 に見られるように、ほぼ垂直で非常に幅が狭い。これは周期的成長には栄養濃度が重要でなく、培地上での細胞の動きやすさをはるかに重要であることを示す。ところが、三村らのモデルではその性格上、領域 C の範囲は栄養濃度に敏感である。このように、モデル化に関してはまだまだ改良の余地がある。

最後に強調したいことは、これまで議論してきたことはすべてマクロなコロニーのパターンについて、それがどのように成長し、どんな形に落ち着くかということであった。それを理解するために、ミクロには個々のバクテリア細胞がどのように振舞うかを調べ、何とかミクロな細胞の行動のレベルとマクロなコロニー形成とを結び付けられないかと模索してきた。しかし、生物一般には、遺伝子・タンパク質—細胞—細胞集団としての個体—集落（コロニー）—集落の集合（バイオフィームなど）—環境も含めた生態系という、大きな階層構造がある。その意味では、ここで議論してきたことはそのほんのさわりに過ぎない。バクテリアが絡んだ階層で今後の大きな話題になるのはバイオフィームであろう。医学、環境、産業のすべてに関わるからである。このバイオフィームのすぐ下の階層がコロニーなので、その意味では今回の話題はその基礎をなすとみなしてよいであろう。今回の話題のより基礎的な発展は、遺伝子・タンパク質とのつながりをつけることであろう。すでにバクテリアの遺伝学は十分に発展しているので、その成果を利用しない手はない。だからといって従来の研究のようにどこかの遺伝子をいじってコロニーの形の変化を見るのではない。すでに知られている大腸菌などのゲノムを参考にし、べん毛など運動に関与する機能をコントロールする遺伝子をマニピュレートして、細胞の運動能を変更する。このような、運動能を随意に変更したバクテリアの変異株を準備して、そのコロニーパターンがどのように変化するかを調べるのである。これは現時点で可能な目標である。

謝辞：非常に有意義な議論や示唆、その他多くのことでお世話になった松山東平、三村昌泰、坂口秀雄、脇田順一、伊藤裕人、小林奈央樹の各氏、その他の多くの方々、それに関連した実験を行って研究を支えてくれた多くの研究室大学院生・卒業研究生達（OB、現役）に深く感謝する。

参考文献

- 1) P. Ball: *Critical Mass - How One Thing Leads to Another* ; (Farrar, Straus and Giroux, New York, 2004).
- 2) P. Singleton: *Introduction to Bacteria*, 5th ed. (Wiley, New York, 1999).
- 3) J. A. Shapiro and M. Dworkin (eds.): *Bacteria as Multicellular Organisms* (Oxford Univ. Press, New York, 1997).
- 4) M. Matsushita, F. Hiramatsu, N. Kobayashi, T. Ozawa, Y. Yamazaki and T. Matsuyama, *Biofilms* Vol. 1 (2004) pp.305-317. (この中にこれまでの実験結果の文献が記されている)
- 5) M. Mimura, H. Sakaguchi and M. Matsushita, *Physica A* Vol.282 (2000) pp.283-303. (この中にこれまでに提案されたモデルの文献がある)
- 6) J. D. Murray: *Mathematical Biology* (Springer-Verlag, Berlin, 1989).
- 7) N. Kobayashi, T. Sato, Y. Yamazaki and M. Matsushita: *J. Phys. Soc. Jpn.* **72** (2003) 970.